This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problems Mailbox.

MIS PAGE BLANK (USPTO)



WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Buro INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5:

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 90/09191

A61K 37/64, C07K 5/02, 7/02

A1

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

23. August 1990 (23.08.90)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP90/00219

(22) Internationales Anmeldedatum: 9. Februar 1990 (09.02.90)

(30) Prioritätsdaten:

P 39 04 040.2

10. Februar 1989 (10.02.89) DE (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), IP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Paten sches Patent), US.

(71)(72) Anmelder und Erfinder: SCHRAMM, Wolfgang [DE/ DE]; Medizinische Kliniken Innenstadt der Universität

München, Ziemssenstr. 1, D-8000 München 2 (DE). SCHRAMM, Hans, J. [DE/DE]; Max-Planck-Institut für Biochemie, Am Klopferspitz, D-8033 Martinsried

(74) Anwalt: DEUFEL, Paul; Isartorplatz 6/IV, Postfach 26 02 47, D-8000 München 26 (DE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Anderungen eintreffen.

(54) Title: AGENT FOR INHIBITING SYMMETRICAL PROTEINS, IN PARTICULAR ENZYMES

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR HEMMUNG VON SYMMETRISCHEN PROTEINEN, INSBESONDERE VON ENZY-

(57) Abstract

An agent for inhibiting symmetrical proteins, in particular enzymes, in particular for inhibiting HIV protease, consists of structurally symmetrical or almost symmetrical enzyme inhibitors. The molecules of these enzyme inhibitors have a structure with the same symmetry as the molecule of the enzyme to be inhibited or a structure with partly or approximately the same symmetry as the molecule of enzyme to be inhibited, but in any case with sufficient symmetry to ensure inhibition.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, das sich dadurch auszeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise oder annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch siel.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

				•	
AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
ΑU	Australien	FI	Finnland	MR	Mauritanien
BB	Barbados	FR	Frankreich	MW	Malawi
BE	Belgien	GA	Gabon	NL	Niederlande
BF	Burkina Fasso	GB	Vereinigtes Königreich	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BJ	Benin	IT	Italien	SD	Sudan
BR	Brasilien	JP	Japan	SE	Schweden
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CG	Kongo	ប	Liechtenstein	TD	Tachad ,
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CM	Kamerun	m	Luxemburg	us	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco		-
DK	Dënemark	MG	Madagaskar		
			=		

15

20

25

30

Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere von Enzymen

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Proteinase bzw. Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast oder teilweise symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren.

Die spezifische Hemmung von Fremdenzymen (aus pathogenen Bakterien oder Viren) oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen ist ein wichtiges Anliegen der Medizin, da sie eine schonende Therapie von Erkrankungen erlaubt. Die Erfindung resultiert aus Versuchen, solche spezifischen Hemmstoffe für die Immunschwächekrankheit AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) zu finden. Sie erfolgten an der Proteinase, kurz auch "Protease" genannt, von HIV (Human Immunodeficiency Virus), einem spezifischen Enzym der AIDS verursachenden HI-Viren. Dieses Enzym ist für die Prozessierung der Vorläuferproteine verantwortlich. Es spaltet aus ihnen die fertigen Virusproteine heraus, aus denen dann das komplette Virus assembliert wird. Eine spezifische Hemmung der HIV-Protease sollte die Vermehrung der Viren unterbinden und die Symptome kurieren. Die Strategie der spezifischen Hemmung der Protease ist bei AIDS besonders bedeutungsvoll, da einmal immunologische Hemmansätze das Risiko in sich bergen, die restliche Immunabwehr des Körpers zu zerstören, und andererseits die Therapie unter Verwendung der bisher bekannten Hemmstoffe der Reversen Transkriptase von HIV (z.B. AZT, FLT, Suramin), einem anderen virusspezifischen Enzym, durch schwerste Nebenwirkungen beeinträchtigt ist. Auch die Therapie von AIDS mittels anderer Verbindungen (z.B. der polysulfatierten Polysaccharide) ist noch nicht überzeugend demonstriert worden oder auch mit schweren Nebenwirkungen belastet.

Es gibt zahlreiche Literatur über die HIV-Protease, wozu beispielsweise verwiesen sei auf

1 L.H. Pearl & W.R. Taylor, Nature (1987) 329, 351-354 I. Katoh et al., Nature (1987) 329, 654-656 C. Debouck et al., P.N.A.S. (1987) 84, 8903-8906 P.L. Darke et al., B.B.Res.Comm. (1988) 156, 297-303 5 S.F.J. Le Grice et al., EMBO J. (1988) 7, 2547-2553 M.C. Graves et al., P.N.A.S. (1988) 85, 2499-2453 M. Kotler et al., P.N.A.S. (1988) 85, 4185-4189 S. Billich et al., J.B.C. (1988) 263, 17905-17908 S. Seelmeier et al., P.N.A.S. (1988) 85, 6612-6616 10 E.P. Lillehoj et al., J. Virol. (1988) 62, 3053-3058 L.E. Henderson et al., J. Virol. (1988) 62, 2587-2595 H.-G. Kräusslich et al., J. Virol. (1988) 62, 4393-4397 M. Miller et al., J.Mol.Biol. (1988) 204, 211-212

15

20

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine effektivere Beeinflussung von Proteasen (durch die zugehörigen Proteine) zu erreichen, z.B. um eine effektivere Therapie von AIDS und anderen Krankheiten, bei denen Enzyme involviert sind, zu erzielen. Eine hohe Spezifität und ein günstiger therapeutischer Index ist dabei von entscheidender Wichtigkeit.

Diese Aufgabe wird gelöst durch Enzyminhibitoren, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell von gleicher oder annähernd oder teilweise gleicher Symmetrie sind wie das zu hemmende Enzymmolekül.

Derartige Enzyminhibitoren sind also bezüglich ihrer

Symmetrie maßgeschneidert im Hinblick auf die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms, das für das Fortschreiten der Krankheit essentiell ist. Diese Inhibitoren werden in an sich bekannter Weise synthetisiert und dann in ebenfalls in der Arzneimitteltechnik üblichen Weise, z.B. i.v. oder oral verabreicht, wobei die Hemmung der Enzyme durch die Verbindungen eine brauchbare Therapie darstellt.

1 Es wurde festgestellt, daß strukturell symmetrisch gebaute (kurz "symmetrisch" genannte) Enzyminhibitoren besonders gut geeignet sind, um die Vermehrung von HI-Viren durch Hemmung der symmetrischen (aus zwei identischen Halbmolekülen 5 bestehenden) viruskodierten Protease zu hemmen. Es wurde ferner erkannt, daß auch andere symmetrische Enzyme auf diese Weise gehemmt werden können. Symmetrische oder teilweise symmetrische Enzyminhibitoren sind bekannt (z.B. für eine Reverse Transkriptase, über deren Struktur und 10 Symmetrie jedoch noch nichts bekannt war), das vorliegende Wirkungsprinzip der Zueinanderpassung von Symmetrie des Enzyms und Symmetrie des Enzymhemmers jedoch nicht. Symmetrische Inhibitoren auf Peptidbasis sind, soweit bekannt, bisher nicht beschrieben worden und konnten auch 15 nicht erwartet werden, da die natürlichen Substrate von Enzymen, auch von symmetrisch gebauten, nie symmetrisch sind. Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß bei solchen Reaktionen (Bindung von unsymmetrischen Substraten an symmetrische Enzyme, bzw. Hemmung von symmetrisch 20 gebauten Enzymen durch unsymmetrische Peptidinhibitoren) entweder nur eine - gut passende - Hälfte des Peptids für die Bindung verantwortlich ist und die andere Hälfte nur eine Hilfsfunktion besitzt oder daß beide Seiten nloht optimal passen, aber zusammen eine für die Hemmung 25 ausreichende Affinität ergeben. Gut passende symmetrische Peptide und Peptidderivate (oder andere symmetrische organisch-chemische Verbindungen) sollten hingegen bei symmetrischen Enzymen allgemein eine stärkere Bindung (und gegebenenfalls Hemmung) vermitteln können als unsymmetrische 30 Peptide.

Es wurde ferner erkannt, daß aus Untereinheiten bestehende Enzymkomplexe - symmetrische wie unsymmetrische - gehemmt werden können, wenn der Zusammenhalt der einzelnen Untereinheiten durch geeignete Verbindungen gestört wird, so

daß entweder eine vollständige oder teilweise Zerlegung oder eine Labilisierung der Komplexe erfolgt, bzw. die Bildung der Komplexe oder der für die enzymatische Reaktion richtigen räumliche Struktur oder Konformation vollständig oder teilweise verhindert wird. Dies kann dadurch erreicht werden, daß Peptide oder peptidähnliche Verbindungen oder andere organisch-chemische Verbindungen angeboten werden, die Aminosäuresequenzen enthalten, oder von solchen abgeleitet sind oder mit solchen verwandt sind, die in den nativen Enzymen vorkommen und für den Zusammenhalt der für die Funktion nötigen Tertiär- und Quartärstruktur verantwortlich sind.

Dies gilt auch und vor allem in Hinsicht auf das aktive 15 Zentrum der Enzymkomplexe, wo relativ kleine Störungen der Struktur bereits zur Inaktivierung des Enzyms führen können. Peptide mit Sequenzen der das aktive Zentrum bildenden oder dieses stabilisierenden Peptidketten (oder Verbindungen mit ähnlicher Struktur) sind daher besonders geeignet, die 20 Aktivität des Enzyms zu hemmen, indem sie die Struktur stören oder die Bildung der korrekten räumlichen Enzymstruktur verhindern. Die hier einsetzbaren Verbindungen müssen selbst nicht symmetrisch sein, die Wirkung ist aber bei symmetrischen Enzymen besonders effektiv, da bei diesen 25 mehrere identische Bindungsstellen vorhanden sind und die Wirkung sich daher je nach Anzahl der Untereinheiten im Komplex vervielfacht. Dieses Prinzip gilt auch für nichtsymmetrische, aber aus Untereinheiten zusammengesetzte Proteine.

30

35

Die Vorteile sind eine sehr spezifische Hemmung der Proteine (Enzyme bzw. Proteasen), da es die genauen strukturellen Eigenheiten der Zielproteine berücksichtigt und die Eigenschaft der Symmetrie für eine verstärkte Bindung der Hemmstoffe aufgrund der mindestens verdoppelten Bindungsfläche ausnützt.

Bei AIDS - wie auch bei anderen Krankheiten - sollte die hohe Spezifität und Bindungskraft der Inhibitoren eine relativ schonende Behandlung erlauben. Dies ist bei AIDS besonders wichtig, da dieses Krankheit eine sehr schonende Behandlung benötigt, weil AIDS das Immunsystem schädigt und daher die Anfälligkeit des Körpers gegen Krankheiten aller Art drastisch zunimmt. Zum anderen wird gerade bei AIDS, das nicht kausal kuriert werden kann, da die Virus-Nukleinsäure in das Genom eingebaut wird, eine lebenslängliche Therapie und damit eine sehr schonende und spezifische Behandlung nötig sein.

Ein solches Mittel zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß das Peptid oder die peptidähnliche Struktur oder die andere organisch-chemische Verbindung eine zentrale organisch-chemische Gruppe aufweist, die der Einfachheit halber M genannt werden soll, an die als Seitenketten Reste X, Y, Z, U, R gebunden sind, welche organische Reste sein können, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurederivate oder Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere aber Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind, so daß sich insgesamt eine symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Verbindung ergibt. Der Begriff "Symmetrie" ist hier im üblichen Sinn der Stereochemie zu verstehen, bezieht sich bei Proteinen also immer auf eine Drehachse.

Somit können durch solche Hemmstoffe Proteine, insbesondere Enzyme gehemmt werden, wenn sie zumindest bezüglich des hemmbaren Molekülteils eine lokale Symmetrie besitzen. Dies sind z.B. Enzyme, die teilweise oder ganz aus gleichen Untereinheiten bestehen, obwohl sie zusätzliche Untereinheiten besitzen können. Neben HIV-Protease, von der dies bekannt ist, gibt es auch andere virale Proteine,

15

20

- Membranproteine, Zytokine, Restriktionsenzyme und Multienzymkomplexe, deren Symmetrie entweder bekannt ist oder hinreichend bestimmt werden kann.
- Die symmetrischen Inhibitoren für die symmetrischen Proteine haben dieselbe Symmetrie wie die zu hemmenden Proteine und bestehen wie erwähnt aus einer zentralen Gruppe M und Seitenarmen, welche der Einfachheit halber im vorliegenden Fall nur mit X bezeichnet werden sollen, so daß sich eine Formel nach dem Schema

$M(X)_n$

ergibt, wobei n die Zähligkeit der Symmetrie des Proteins ist, z.B. "2" bei Proteinen mit 2-zähliger Achse, Symmetrie C₂).

Wie erwähnt, können die Seitenarme bestehen aus Aminosäuren, Peptiden oder Derivaten oder anderen organisch-chemischen

Verbindungen, wobei jedoch Peptide unter anderem den Vorteil haben, durch leichte, zum Teil automatisierte Synthese zugänglich zu sein. Im Prinzip sind jedoch z.B. auch Fettsäuren, Kohlehydrate oder sogar anorganische Verbindungen als Seitenarme möglich, wenn sie für das spezielle Enzym passen. Bevorzugt werden vor allem kurze Peptide meist mit 2 bis 4 Aminosäuren pro Seitenarm verwendet.

Die beiden oder auch mehreren Arme müssen zueinander symmetrisch oder annähernd oder teilweise symmetrisch sein, in dem Sinne, daß die Symmetrie des zu hemmenden Proteins, z.B. eine 2-Zähligkeit, sich in dem Inhibitor wiederfindet. Im Beispiel der Dyade muß also beim Inhibitor durch Drehen um die zweizählige Achse ein Seitenarm in den anderen übergeführt werden können.

10

- Dies kann z.B. auf folgende Weise erreicht werden:
 - a) Wenn die Laufrichtung der Peptidketten in den beiden Hälften verschieden ist, dergestalt, daß in einer Hälfte der NH-CO-Vektor zum Zentrum weist, in der anderen Hälfte vom Zentrum weg, dann muß in einer Hälfte durch Verwendung von Aminosäuren entgegengesetzter Chiralität (D statt L, bzw. umgekehrt) ein Ausgleich geschaffen werden. Der so entstandene Inhibitor ist dann bezüglich der Seitenketten noch annähernd symmetrisch, bezüglich der Peptidbindungen allerdings nicht. Dies genügt aber in aller Regel, daß der Hemmer für das zu hemmende Enzym noch hinreichend symmetrisch ist.
- Inhibitors symmetrisch sind, sondern z.B. ein Tyrösin auf einer Seite durch ein Phenylalanin ergänzt wird, die restlichen Aminosäuren aber gleich und komplementär sind, ist immer noch mit einer hohen Hemmaktivität zu rechnen. Solche Hemmstoffe können sogar bezüglich der Löslichkeit, Membrangängigkeit und dergleichen günstiger sein alls streng symmetrische Verbindungen. Für die Abweichung sind strukturelle und physikalisch-chemische Parameter wie Größe, Ladung, Hydrophilizität und dergleichen, maßgebend. So ist der Inhibitor

Phe-Thr-Ile-M-Leu-Ser-Tyr

bezüglich der genannten Eigenschaften "symmetrischer" als

Ala-Arg-Gly-M-Gly-Asp-Ala (ungleiche Ladung, Arg/Asp))

oder

Gly-Gly-Try-M-Gly-Gly (ungleiche Größe, Try/Gly),
da der Unterschied, z.B. zwischen Thr einerseits und Ser
andererseits geringer ist als zwischen Arg und Asp oder
zwischen Try und Gly.

WO 90/09191 PCT/EP90/00219

-8-

Kleine Abweichungen von der Symmetrie können daher prinzipiell geradezu von Vorteil sein. Es muß nur der Gewinn an Affinität durch die optimale Strukturanpassung (durch Symmetrieanpassung) noch groß genug für starke Bindung sein.

5

Die Zentralen Gruppen haben die Aufgaben,

- a) die Symmetrie des Proteins auf den Hemmstoff zu übertragen,
- b) die für eine gute Bindung mitverantwortlichen Seitenarme im richtgen Abstand und Bindungswinkel zu halten, und
- c) selbst durch gute Einpassung in das Protein, z.B. das aktive Zentrum eines Enzyms, zur guten Bindung des Hemmstoffes und damit zur Hemmung des Proteins beizutragen.

15

20

25

10

Die Zentralen Gruppen müssen selbst nicht unbedingt symmetrisch sein, z.B. wenn die Seitenarme weitgehend für die Affinität verantwortlich sind. Die Zentrale Gruppe kann chiral sein, z.B. Statin. Wichtig ist, daß die Vermittlung der Orientierung der Seitenarme und der richtigen Abstände optimal ist. Dies ist jedoch für den präparativen Chemiker in Kenntnis der Symmetrie oder eventuell sogar der genaueren Struktur des Enzyms kein Problem. Die Größe der Zentralen Gruppe kann verschieden sein, ebenso ihre chemische Natur, so daß auch anorganische Gruppen wie -P(O)OH- oder auch nur eine Bindung selbst als Zentrale Gruppe gelten kann. Ein Strukturmimikry des Substrats oder eines Übergangszustandes einer enzymatischen Reaktion durch den Hemmstoff kann wichtig sein.

30

35

Ungeeignet sind Zentrale Gruppen, wenn sie zwar die richtigen Seitenketten (entsprechende Reihenfolge und Chiralität der Aminosäuren) im richtigen Abstand anordnen, aber so, daß ein Arm bezüglich der Richtung der Symmetrieachse falsch angeordnet ist, z.B. wenn "oben" und "unten" verkehrt sind.

Die folgenden Beispiele zeigen teilweise oder annähernd symmetrische Peptide, die zu einer Hemmung der HI-Viren in H9-Zellen führen.

BEISPIEL 1

A) H-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH

B) t-BOC-L-Leu-NH-CH2-CHOH-CH2-COOH

C) Cl-CH₂-CO-Gly-Ala-Phe-Pro-Ile-Ala-OH

D) CH₃CO-Thr-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Thr-COCH₃

20 E) Ala-Asp-Thr-B-Naphthylamid

F) CH_2 -(- CH_2 CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH)₂

Die Verbindungen (a), (b), (c), (d) wurden bei Molgritäten getestet, die von 0,1,uM bis 1000,uM reichten.

Infektivitätsversuche wurden wie folgt durchgeführt: Eine HIV-l Suspension mit einem Gehalt an 10² infektiösen. Einheiten wurde auf 5 x 10⁶ H9 Zellen in einem Volumen von 1 mm für eine Zeitspanne von 2 h bei 4°C absorbiert. Nach dieser Zeitspanne wurden 9 ml an Gewebekulturmedium, welches die geeignete Inhibitorkonzentration enthielt, zugegeben. Das Medium wurde jeden Tag gegen frisches Medium plüs Inhibitor ausgewechselt. Zwei Kontrollkulturen ohne Inhibitor wurden mitangesetzt, eine, um den normalen Grad der Virusreplikation zu bestimmen sowie eine Kultur mit

1 Inhibitor ohne Virus, um zu bestimmen, ob diese Substanzen für H9 Zellen zytotoxisch sind. Es wurde kein zytotoxischer Effekt beobachtet wie sich durch das Anfärben der Zellen mit Trypanblau zeigte. Die Menge an Virusantigen, die von den 5 infizierten Zellen erzeugt wurde, wurde täglich 8 Tage lang durch Elisa gemessen, wobei HIV-l Antigen in Gewebekulturmedium bestimmt wird. Nach dieser Zeitspanne wurden die Zellen pelletisiert, im Medium ohne Inhibitor gewaschen und weiter im Medium ohne Inhibitor inkubiert. Die 10 Antigenproduktion wurde am Tag 9 und 12 (d.h. 1 und 3 Tage nach Entfernung des Inhibitors) gemessen. An den Tagen 7, 8, 9 und 12 wurde die Virusproduktion auch durch Reverse Transkriptasebestimmung von Überständen des

15

Dabei ergab sich eine deutliche Hemmung der HIV l Replikation wie die beigefügten Tabellen l bis 5 für die Verbindungen (a) bis (d) zeigen.

Zellkulturmediums gemessen.

Bei den folgenden Beispielen bedeuten R und R' Peptidreste, vorzugsweise solche bis maximal 9 Aminosäuren, insbesondere mit 2 bis 4 Aminosäuren, oder andere kurze organisch-chemische Reste, beispielsweise CH₃(CH₂)_nCO-mit n = 1 bis 10, CH₃CO-, H-, -NH₂, -NHR, -OR; X bedeutet kleine Aminosäurereste, wie Gly, Ala, Ser, oder andere kleine Reste, A und B sind Aminosäuren oder andere organische Reste. Dies gilt für alle folgenden Beispiele, wenn nichts anderes angegeben ist.

30 BEISPIEL 2

R-(D)-Ser-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Gln-OR'

 $Acetyl-(D)-Asp-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Leu-(D)-Ile-(D)-Lys-NH_2$

10

Solche Verbindungen können bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwer spaltbare -NHCO-Bindung, also mit umgekehrter Richtung, besitzen, z.B. unter Verwendung des retro-inverso-Prinzips unter gleichzeitiger Umkehrung von Laufrichtung der Sequenzen und der Konfiguration der Aminosäuren, z.B. nach den Formeln

(D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-(D)-D-, anstelle eines natürlichen Substratpeptids der Formel

(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-(L)-D-,
wobei die Paare D und A, bzw. C und B, symmetrisch sein oder
wenigstens eine strukturelle Ähnlichkeit (bezüglich
Hydrophobizität, Ladung, Größe der Seitenketten etc.) zeigen
sollen.

20

BEISPIEL 3

25

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-NH-CH₂-CO-CH₂-CO-(L)-Gln-30 (L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

- Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Gln-Statin-(D)-Gln-(D)-Ala-(D)-Arg-OH
- Fluoracetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-Statin-(D)-Asn-(D)-Ala(D)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Leu-Statin-(L)-Leu-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Leu-(D)-Arg-(D)-Asn-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-(L)-Asn-(L)-Arg-(L)-Leu-NH₂

In den verwendeten Verbindungen kann ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration bestehen, während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, dergestalt, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend des in den Formeln

20 (L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-Coder

(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C

ausgedrückten Prinzips, wobei A, B, C Aminosäurereste darstellen. Hierbei ist darauf zu achten, daß durch Einfügen einer geeigneten Zentralen Gruppe M (im Zentrum) das auf Seite 8 unten dargelegte Prinzip gewahrt ist.

Auch hier ist bei Hemmung für Protease die Enzymhemmung dadurch zu erreichen, daß die Enzymhemmer anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, wie dies etwa bei Beispiel 7 erläutert ist,

sowie daß in den verwendeten Verbindungen an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei

Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 4 erläutert ist,

und daß in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration bzw. Chiralität, aber mit umgekehrter Laufrichtung der Peptidbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 7 gezeigt ist,

ferner, daß wie auch in Beispiel 8 gezeigt, in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale

organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender Aminosäuresequenz mit gleicher Laufrichtung der Peptidbindungen, aber mit umgekehrter Chiralität der Aminosäuren so angeheftet werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht,

und schließlich, daß in den verwendeten Verbindungen an eine symmetrische oder teilweise symmetrische oder annähernd symmetrische Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B. entsprechend den Formeln XCH₂CO-, N₂CHCO-, NC-CH₂-CO-, RO₂C-, CH₂=CR-, RO_nS-, HS-, RO(H₂N=)C⁺- so angeheftet werden, daß die Verbindungen von Zielenzym reversibel oder irreversibel gebunden werden können. Hier

bedeutet X Halogen, R ist ein Esterrest mit 1 bis 12 Kohlenstoffatomen, aber vorzugsweise ein C_1 - C_3 -Rest, oder ein Phenyl- oder Benzylrest und n = 1 bis 3.

5 BEISPIEL 4

R-Statin-X-Statin-R' oder

CH₃CO-Statin-X-Statin-NH₂ oder

Isovaleryl-Ser-Ser-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Acetyl-Ser-Statin-Gly-Statin-NH2 oder

15 Acetyl-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Fluoracetyl-Statin-Ala-Statin-NH2 oder

Acetyl-Statin-Ala-Statin-NH-CO-CH₂-CN;

20

10

ferner: Kombinationen von (3S,4S)-, (3R,4R)-, (3R,4S) und (3S,4R)-Statin in obiger oder ähnlicher Weise;

ferner: Modifizierung von R entsprechend der Sequenz von
Pepstatin A, den Bindungssequenzen in typischen Substraten
von HIV-Protease, etc..

In den verwendeten Verbindungen sind an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

1 BEISPIEL 5

R-Asp-Thr-Gly-R' oder

5 R-Asp-Ser-Gly-R' oder

R-A-Asp-Thr-Gly-B-R' oder

Acetyl-Ile-Asp-Thr-Gly-Ala-NH2 oder

10

Isovaleryl-Ile-Asp-Ser-Gly-Ala-NH-(CH₂)₃-CH₃ oder

Acetyl-Asp-Thr-Gly-Ala-NH₂

15 Chloracetyl-Asp-Thr-Gly-Ala-NH₂

Acetyl-Ile-Gly-Arg-Asn-NH2

Acetyl-Ile-Gly-Gly-Arg-Asn-Ile-NH2

Die verwendeten Verbindungen enthalten die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche

- organisch-chemische Reste, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung verhindern
- 30 können.

BEISPIEL 6

Acetyl-Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val-NH₂ oder

35

- Fluoracetyl-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-NH₂ oder
 Isovaleryl-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder
- 5 H-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-NH2 oder ähnliche Verbindungen

Die verwendeten Verbindungen enthalten im Falle der HIV-Protease als Zielenzym die Aminosäuresequenz Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.

BEISPIEL 7

20

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-(CH₂)₃-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-O-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NCH₃-Asn-Leu-Arg-Acetyl

H-(D)-Leu-(D)-Leu-(D)-Asn-NH-CHF-CO-CHF-NH-(D)-Asn-(D)-Leu-30 (D)-Arg-H

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln

```
1
       -S-S-, -S-, -O-,
       -CO-CHR-CH(OH)-CHR'-CO-, -NR-NR'-,
       -NH-CHR-CH(OH)-CHR'-NH-, -NH-CF2-CO-CH2-NH-,
       -NH-CF_2-CO-CF_2-NH-, -CO-(CH_2)_3-CO-,
 5
      -NH-(CH_2)_3-NH-, -CO-CH_2-O-CH_2-CO-, -N(OR)-, -NR-
       -P(O)_{p}OH-, -CO-CHR-CO-,
       -NH-CH_2-O-CH_2-NH-, -CO-CH_2-NR-CH_2-CO-,
       -N(C_5H_{11}^-)-CF_2-CO-CF_2-N(C_5H_{11})-
       -N(C_AH_Q)-CH_2-CH(OH)-CH_2-N(C_AH_Q)-L
10
       -(2s,3s)-NH-CH(CH_2C_6H_{11})-CH(OH)-CH_2-NR-,
       oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder
       Aryl- oder Alkylreste bis C12 bedeuten und n die Zahl 1
       oder 2 bedeutet.
15
       In den verwendeten Verbindungen werden an eine zentrale
       organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten
       zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher
       oder annähernd gleicher oder sich entsprechender
       Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration, aber mit
20
       umgekehrter Laufrichtung so angeheftet, daß insgesamt eine
       räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder
       teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B.
       entsprechend den Formeln
       (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-
25
       (L)-B-NHCO-(L)-A oder
       (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH
       (L)-B-CONH-(L)-C oder
       (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-NHCO-(L)-C-NHCO-
       (L)-B-NHCO-(L)-A oder
30
       (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-CONH-(L)-A-CONH-
       (L)-B-CONH-(L)-C oder
       (L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-
       (L)-B-NHCO-(L)-A oder
```

(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONE

(L)-B-CONH-(D)-C oder

1 (L)-B-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder
(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C,
wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale
organisch-chemische Gruppe (Beispiele s.o.) darstellen.

BEISPIEL 8

20

25

Zusätzlich zu den in oben in Beispiel 7 gezeigten
Möglichkeiten werden hier in den verwendeten Verbindungen an
eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei
unterschiedlichen Substituenten zwei Peptide oder
peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd
gleicher oder sich entsprechender Aminosäuresequenz, aber
mit umgekehrter Laufrichtung und Konfiguration der
Aminosäuren, aber gleicher Laufrichtung der Peptidbindungen,
so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder

- annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M.CONH-(D)-C-CONH-
 - (D)-B-CONH-(D)-A oder
 - (L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-CONH-(D)-C-CONH-
- 35 (D)-B-CONH-(D)-A oder

- 1 (D)-A-CONH-(D)-B-CONH-(D)-C-CONH-M-CONH-(L)-C-CONH-
 - (L)-B-CONH-(L)-A, oder
 - (D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-M-NHCO-(L)-C-NHCO-
 - (L)-B-NHCO-(D)-A
- wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale Gruppe darstellen.

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von Proteinasen als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine

- nichtspaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln
 -CR2-NH-, -CH(OH)-NH-, -CO-N(CH3)-, -P(O)n-NH-,
 - -(3S,4S)-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure- (Statin),
- -(3S,4S)-3-Hydroxy-4-amino-5-phenylpentansäure (AHPPA),

 oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder

 Aryl- oder Alkylreste bis C₁₂ bedeuten und n die Zähl l

BEISPIEL 9

oder 2 bedeutet.

20

$$\mathrm{NH_2}$$
-Arg-Leu-Asn-CO-(CH $_2$) $_3$ -CO-Asn-Leu-Lys-NH $_2$

$$H_2N-(D)-Leu-(D)-Asn-CO-(CH_2)_3-CO-(D)-Asn-(D)-Ile-NH_2$$

NH₂-Leu-Asn-CO-CH₂-NH-CH₂-CO-Asn-Leu-Arg-OR

$$\mathtt{NH}_2$$
-Arg-Leu-Asn-CO-CH $_2$ -CHOH-CH $_2$ -CO-Asn-Leu-Arg- \mathtt{NH}_2

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl

H-Leu-Leu-Asn-NH-CHF-CO-CHF-NH-Asn-Leu-Arg-H

Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH2-O-CH2-NH-Asn-Leu-Arge Acetyl

35 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH2-CH(OH)-CH2-NH- Asn-Leu-H

WO 90/09191 PCT/EP90/00219

-20-

H-(L)-Arg-(L)-Ile-(L)-Asn-NH-CH₂-CO-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Arg-OH

H-Ala-Ala-Statin-(D)-Val-(D)-Val-OCH3

5

10

20

Zusätzlich zu den in den beiden vorhergehenden Beispielen angegebenen Möglichkeiten können hier in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit unterschiedlichen Aminosäuresequenzen, aber mit ähnlicher bzw. entsprechender Verteilung von Resten mit gleicher

bzw. entsprechender Verteilung von Resten mit gleicher elektrischer Ladung oder gleicher oder ähnlicher Hydrophobizität oder Hydrophilität oder Größe der Seitenketten oder einer anderen physikalisch-chemischen

Eigenschaft so eingebaut werden, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln

 $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-CONH-(D)-B^+-(D)-C$, oder

 $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-NHCO-(L)-B^+-(L)-C$, oder

 $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-CONH-(D)-B^+-(D)-D$, oder

 $(L)-C-(L)-A^+-CONH-M-CONH-(D)-B^+-(L)-C$, oder

(L)-D-(L)-AX-CONH-M-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder

(L)-C-(L)-AX-CONH-M-CONH-(D)-BX-(D)-C, oder

(L)-C-(L)-AX-CONH-NHCO-(L)-BX-(L)-C, oder

25 $(L)-C-(L)-A^+-HNCO-CONH-(D)-B^+-(D)-D$,

wobei A⁺, B⁺ = zwei verschiedene Aminosäurereste mit gleicher Ladung, M eine zentrale organisch-chemische Gruppe und AX, BX zwei verschiedene Aminosäuren mit vergleichbar großen hydrophoben oder hydrophilen Seitenketten sind.

30

Abschließend seien noch einige Beispiele für zentrale Gruppen (M), für Seitenketten sowie für ganze Inhibitoren gezeigt:

```
1
       Beispiele für Zentrale Gruppen:
       -NH-CH(OH)-CH(OH)-NH-, -O-, Stating
       -NH-CH(CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>)-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-NH-,
 5
       -NH-CH(C_4H_9)-CO-CH(C_4H_9)-NH-
       -NH-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-NH-,
        (1S,3S)-NH-CH(Cyclohexylmethyl)-CO-CH(Cyclohexylmethyl)-
       NH-, 2-Alkylstatin, -CH2-, Ethylenepoxid, Thiophen,
10
       Beispiele für Seitenketten:
       Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-, H-His-Pro-His-Tyr-,
       Ac-Arg-Ser-Gln-His-Cha-, H-Ala-Ala-
15
       Beispiele für ganze Inhibitoren:
       tBoc-Arg-Ser-Gln-His-NR-CH2-CH(OH)-CH2-NR-His-Gln-Ser-Arg-
        tBoc,
        (R=-CH_2-CH(CH_3)_2, -CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
20
       H-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH2-NH-His-Pro-His-H
        (R=-CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
       Ac-His-Pro-His-NH-CHR-CH(OH)-CH_2-CO-NH-\underline{D}-His-\underline{D}-Gln-OCH_3
25
        (R=-CH_2-C_6H_{11} \text{ etc.})
       Ac-Arg-Ser-Gln-Asn-
       -NH-CH(CH_2C_6H_{11})-CO-CH(CH_2C_6H_{11})-NH-
        -Asn-Gln-Ser-Arg-Ac
30
        (Zentrale Gruppe: 1S,3S; statt CO auch -CH(OH)-, -CO-CO
        -CH(OH)-CH(OH)-, Furan, Ethylenepoxid etc.)
        tBoc-His-Pro-Phe-His-Leu-Statin-D-His-D-Phe-D-Pro-D-His- tBoc
```

- Ein Verfahren zur Inhibierung von Proteasen, z.B.
 HIV-Protease durch bestimmte Peptide besteht, kurz
 skizziert, darin, daß man
 - 1. die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms bestimmt,
 - die Sequenz eines guten Substrats oder eines hemmenden Peptids auswählt und
 - 3. die dem Symmetriezentrum am nächsten liegenden Aminosäuren feststellt,
- 4. ein solches, die Bindung vermittelndes Peptid an diesen Aminosäuren durch chemische Synthese so mittels einer zentralen Gruppe verknüpft, daß ein hinreichend symmetrisches Peptid entsteht,
 - 5. wobei man eine solche zentrale Gruppe wählt, daß die sich entsprechenden Aminosäuren im richtigen Abstand zu Mitte stehen,
 - 6. mittels Computer aided molecular design die gute Paßform überprüft und die genaue Einhaltung der Symmetrie im Inhibitor feststellt und
- 7. die Hemmaktivität überprüft, insbesondere wenn die Strukturkoordinaten nicht bekannt sind. In diesem Fall wird die Sequenz der Seitenarme und die Struktur der zentralen Gruppe durch trial and error über die Hemmaktivität optimiert.
- Die chemische Herstellung solcher Verbindungen ist an sich bekannt, ebenso ist die Verabreichung der Verbindungen an sich bekannt, so daß der Fachmann hier auf übliche und wohlbekannte Arbeitsweisen zurückgreifen kann.
- Abschließend seien noch einige bevorzugte Ausführungsformen hinsichtlich Hemmverbindungen angegeben:
 - Die verwendeten Verbindungen bestehen vorzugsweise aus Peptiden oder peptidanalogen Strukturen oder aus

5

Verbindungen, welche Peptide oder peptidanaloge Strukturen enthalten oder von solchen Strukturen abgeleiteten Verbindungen bestehen, wobei z.B.

folgende symmetrische oder teilweise symmetrische Verbindungen in betracht gezogen werden:

X-Y-Z-M-Z-Y-X, Z-M-Z, X-Y-Z-Z-Y-X, X-Y-Z-M-Z-Y', X-U-Y-X-Z-Z-X-Y'-X, Z-Z-Y-R, R-U-X-Y-Z-M-Z, oder auch nur M, wobei X,Y,Z,U,R organische Reste, insbesondere Aminosäuren oder Derivate davon, Monosaccharide oder Derivate,

10 Fettsäurereste oder Derivate, sind, M die zentrale organisch-chemische Gruppe darstellt und die beiden Strukturen Y, die zu beiden Seiten der zentralen Gruppe stehen, strukturell oder in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften ähnliche Verbindungen sind, was zusätzlich

oder stattdessen auch für die anderen genannten Gruppen X,
Z, U oder R gelten kann. Bei guter Passung kann eine
symmetrische oder fast symmetrische Gruppe M zur Hemmung
ausreichen, z.B. ein Dipeptidanalogon, wie es auf Seite 20,
Zeile 18-20 für die Gruppe M von -NH-... bis ...-NH- gezeigt

20 ist.

Die Voraussetzung zur Bindung der verwendeten Verbindungen an das Zielenzym kann z.B. dadurch geschaffen werden, daß in ihnen typische Spaltsequenzen oder Bindungssequenzen der natürlichen Substrate oder mit ihnen verwandten Strukturen oder Strukturen dieser Art verwendet werden, die so modifiziert wurden, daß sie dem Zielenzym nicht mehr als Substrat dienen und als Inhibitoren wirken. In den verwendeten Verbindungen können die Voraussetzungen zur Hemmung der Zielenzyme auch dadurch erreicht werden, daß

Hemmung der Zielenzyme auch dadurch erreicht werden, daß

Substrate oder substratähnliche Verbindungen so modifiziert werden, daß sie anstelle der enzymatisch veränderbaren Stellen nicht mehr veränderbare Stellen tragen und daher als Inhibitoren wirken.

35

PCT/EP90/00219

1 Eine bevorzugte Gruppe von Hemmverbindungen im Falle von Proteinasen als Zielenzym haben anstelle der spaltbaren Peptidbindungen ein Dipeptidanalogon mit reduzierter Peptidbindung oder eine andere ähnliche Verbindung mit 5 nichtspaltbarer Bindung und gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid und wirken so für das Zielenzym als Inhibitoren. Die verwendeten Verbindungen können im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindung Statin oder ein Derivat des Statins oder eine 10 verwandte oder ähnliche, nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen. Sie können aber auch im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine phosphorhaltige nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge 15 wie ein Dipeptid besitzen, wie z.B. Phosphonsäureamide. Statin und ähnliche Dipeptidanaloga stellen selbst bereits annähernd symmetrische Verbindungen dar (Symmetrie nahe am -OH).

Bei Proteinasen als Zielenzym kann in den Hemmverbindungen durch Einführung einer längeren Aminosäure oder einer anderen organisch-chemischen Gruppe die Stelle der spaltbaren Peptidbindung im Vergleich zu der Lage der Spaltstelle in einem guten Substrat räumlich verschoben werden, wodurch die Verbindung für das Zielenzym als Inhibitor wirkt. Es kann z.B. in den verwendeten Verbindungen die Stelle der spaltbaren Peptidbindungen durch Einführung von Statin oder einer verwandten organisch-chemischen Gruppe oder einer anderen Gruppe im Vergleich zu der Bindungslage eines guten Substrats räumlich verschoben werden.

In den verwendeten Verbindungen kann die Symmetrie oder teilweise Symmetrie der Verbindungen dadurch erreicht werden, daß in den Verbindungen zentrale organisch-chemische

- 1 Gruppen vorhanden sind, die als Zentren der Symmetrie oder der annähernden Symmetrie wirken, oder die verwendeten Verbindungen besitzen zentrale organisch-chemische Gruppen mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivaTenten 5 organischen Substituenten, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln 10 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C oder C-NHCO-B-CHCO-A-NHCO-M-CONH-A-CONH-B-CONH-C, wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale organisch-chemische Gruppe darstellen. Die verwendeten 15 Verbindungen können eine symmetrische oder annähernd symmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten besitzen, die in der Länge mindestens einem Dipeptid entsprechen und mit Peptiden oder peptidähnlichen 20 Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht. Falls das oben erstgenannte Formelbeispiel (...-NH-M-NH-...) einem guten Inhibitor entspricht, muß im zweiten Beispiel (...-CO-M-CO-...) die 25 Chiralität der verwendeten gleichen Aminosäuren (A,B,C) umgedreht werden ("D"-Formen), um eine ähnlich gute Passung und damit Hemmung zu erreichen.
- Für den Fall einer zentralen organisch-chemischen Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten, an die zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen angeheftet sind, seien als Beispiele die Formeln

 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-CONH-B-CONH-C

1 C-NHCO-B-NHCO-A-NHCO-M-NHCO-A-NHCO-B-NHCO-C genannt, wobei A, B, C Aminosäurereste und M die zentrale organisch-chemische Gruppe sind. Die symmetrische Sequenzanordnung allein reicht im allgemeinen nicht aus für die Konstitution eines hinreichend "symmetrischen" Inhibitors, wie nachstehend noch erläutert wird (s.a. Seite 8).

Die verwendeten Verbindungen können auch zwei Statinreste 10 oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, so daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wobei die verwendeten Verbindungen zwei Statinreste mit entgegengesetzter 15 Konfiguration oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten können. Die verwendeten Verbindungen können zwei Statinreste oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, wobei einer der Statinreste 20 endständig ist, um die freie Drehbarkeit der Bindungen zu gewährleisten, so daß die Einnahme einer räumlich symmetrischen oder annähernd symmetrischen oder teilweise symmetrischen Konformation der Gesamtverbindung erleichtert wird.

25

30

Wenn in den verwendeten Verbindungen wie im Normalfall ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer einzigen räumlichen Konfiguration (z.B. L-Form) besteht, muß die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration bestehen, um einen hinreichend symmetrischen Inhibitor zu erzeugen. Hier sind folgende Beispiele bevorzugt:

(L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C oder

(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C wobei A,B,C Aminosäurereste darstellen.

1 In den verwendeten Verbindungen kann an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung ein Nichtpeptidrest so gebunden werden, daß eine annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in 5 bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften wie Ladung, Hydrophilizität, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes, oder in den verwendeten Verbindungen ist an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung oder an ein Peptid mit einer 10 zentralen organisch-chemischen Gruppe eine Seitenkette oder ein Nichtpeptidrest so gebunden, z.B. entsprechend den Formeln B-A-M-A-R oder R-B-A-M-A oder R-C-B-A-B-A oder B-A-M-R, wobei A,B,C,D, Aminosäurereste, M eine zentrale 15 organisch-chemische Gruppe und R einen organischen Rest darstellt, dergestalt, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften, wie Ladung, 20 Hydrophiliziät, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes. Es können aber an ein symmetrisches oder teilweise symmetrisches oder annähernd symmetrisches Peptid oder eine peptidähnliche Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B. 25 entsprechend den Formeln XCH2CO-, N2CHCO-, NC-CH2-CO-, RO_2C- , $CH_2=CR-$, RO_nS- , HS-, $RO(H_2N=)C^{+}-$, so gebunden sein, daß die Verbindungen vom Zielenzym geversibel oder irreversibel gebunden werden können. Auch hier bedeutet n die Zahl 1 oder 2 und R ist ein üblicher Esterrest, wie 30 schon früher angegeben. Die verwendeten Verbindungen können auch Aminosäuresequenzen der Enzyme oder Proteine enthalten, die für die Assoziation ihrer Untereinheiten oder Teilstrukturen oder die Stabilität oder strukturelle Anordnung der funktionierenden Enzyme und 35 Proteine mitverantwortlich sind, oder verwandte oder

- 1 ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste besitzen, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzyme oder Proteine beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität oder ihre 5 Funktion beeinträchtigen oder ihre Bildung verändern können. Hierbei können die verwendeten Verbindungen Aminosäuresequenzen oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste der HIV-Protease enthalten, die 10 für die Assoziation der Untereinheiten des Enzyms und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern 15 oder ihre Bildung verhindern können. Die verwendeten Verbindungen können vorzugsweise die Aminosäuresequenz Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; 20 Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden 25 Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- Auf diese Weise kann also Struktur und/oder die Wirkung von Enzymen, die eine gewisse Symmetrie haben, indem sie aus gleichen oder ungleichen Untereinheiten bestehen, insbesondere von Enzymen von pathogenen Bakterien oder Viren

	and the control of th
1	oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen,
	durch stabile organisch-chemische Verbindungen gehemmt
	werden, was zur Therapie dienen kann, wenn die verwendeten
	Verbindungen Aminosäuresequenzen der strukturell
5	unsymmetrischen komplexen Zielenzyme oder verwandte oder
	ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche
	organisch-chemische Reste enthalten, die für die Assoziation
	der Untereinheiten der Enzyme und die Bildung und den
	Zusammenhang der funktionierenden Enzymkomplexe
10	mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Bildung
	oder den Zusammenhalt oder die Stabilität der Enzymkomplexe
	stören und ihre Aktivität beeinträchtigen oder verhindern
	können.
15	

1										
10	/m1)	12	165540	104660	142240 117910	163130 137470	149020	125290 164920	92020	TOBOR
15	Transkriptase Determination (epm/ml)	6	18921	1550	12517	9502 14455	5503	6575 7187	8474	DOTO
. 20	i	. 80	23708 30094	2121	5381	7460 6914	3159	4418	3006	1600
25	Reverse	7	12401	1529	53/8 4615	4041 3929	3441	4033	6105	6602
35		Day post infection	rol 1 rol 2	×.	ΣΣ	E E	Σ	W V.	ΣΣ	
		Day post	HIV Control	A 1000 µM	MU 01	1 µM 0,1 µM	В 1000 μМ	100 µM 10 µM	Mu I	T 10

ERSATZBLATT

ı	l	I		I	I					
ibitor 12	165540	107640	158800 164240	113340		1533	210720	213750	139610	
on 9	18921	5343	8823	7477		3022	2914	2227	2304	
ω	23708 30054	4308	4398	2314		2663	5411	2058	3844	=
7	12401	7646 3838	5358 4575	5561	N. F	4393	4112	2229	5550	<u>.</u>
y post infection	V Control 1 V Control 2	1000 µM 100 µM	10 µМ 1 µМ	0,1 иМ	1000 µM - Not tested	100 µM	10 µм	J nM	0,1 µМ	
	no inhibitor	7 8 9 no inhibit 12401 23708 18921 4183 30054 13680	infection 7 8 9 no inhibito no inhibito 12401 23708 18921 1 13680 1 1 13686 5343 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	infection 7 8 9 no inhibite ol 1 12401 23708 18921 1 ol 2 4183 30054 13680 1 ol 2 7646 4308 5343 1 5358 6370 8860 1 5358 4398 8823 1 4575 3198 4186 1	7 8 9 no inhibite 12401 23708 18921 1 4183 30054 13680 1 7646 4308 5343 1 3838 6370 8860 1 5358 4398 8823 1 4575 3198 4186 1 5561 2314 7477 1	infection 7 8 9 no inhibite ol 1 12401 23708 18921 1 ol 2 4183 30054 13680 1 ol 2 4183 30054 13680 1 ol 2 7646 4308 5343 1 s358 4398 8860 1 4575 3198 4186 1 - Not tested . 7477 1	Fection 7 8 9 no inhibite 1 12401 23708 18921 1 2 4183 30054 13680 1 2 4183 30054 13680 1 3838 6370 8860 1 5358 4398 8823 1 4575 3198 4186 1 Not tested 4393 2663 33022	Fection 7 8 9 Inhibito 1 12401 23708 18921 1 2 4183 30054 18921 1 2 4183 30054 13680 1 3838 6370 8860 1 5358 4398 8823 1 4575 3198 4186 1 Not tested 4393 2663 3022 4112 5411 2914 2	Fection 7 8 9 no inhibite 1 12401 23708 18921 1 2 4183 30054 13680 1 2 4183 30054 13680 1 3838 6370 8860 1 5358 4398 8823 1 4575 3198 4186 1 Not tested 4393 2663 3022 4112 5411 2914 2 6777 2058 2227 2	Fection 7 8 9 Ino inhibit 1 12401 23708 18921 13680

ERSATZBLAT

35	30	25	15	10	1 5
	=		==		
Day post infection	. 7	ω	σ.	no innibitor	
Control 1	12401	23708	18921	165540	
HIV Control 2	4183	30094	13680	168620	
16 1000 µМ	3344	5760	9748	151010	
100 µM	3099	3709	10344	97040	
мп	4537	5825	4340	153830	
Мц	3155	1663	6295	201520	
мт	5487	982	2994	149330	
17 1000 µM	4859	5194	3874	129790	
hМ	3770	5958	9599	129730	
Mu	4854	6908	. 1	164570	
Mı	2955	9092	3925	122840	-
мп	3328	5959	4279	93946	
,			: : :	-	
Conclusion: All subs	e S	rested snowed a signi	significant innibitory effect on hiv-i	errect on hiv-r	
replication	as	measured by total ant	antigen production or by reverse transcriptase	by reverse trans	criptase
measurement of		sed virus. This	released virus. This effect was reversible	ble as virus production	uction

quickly returned to control levels after removal of inhibitor from infected

5	
10	2011 677
	FITCA
15	on three
	antigen
20	ָרָ הַ
	תי הסיוומנסת
25	υ α
	מטוייוטטאמ
30	not i den
0.5	HTV-1
35	11 + 6 •

\$ (12	1,017	1,054 1,013 1,003 1,065 1,065	1,050 0,960 1,038 0,970 1,047	1,000 0,940 1,040 1,042 1,010
es	6	1,052	0,899 0,915 0,727 0,694 0,737	0,811 0,890 0,645 0,745	1,019 0,787 0,643 0,808
SA, values	80	0,748	0,597 0,374 0,499 0,394 0,478	0,577 0,260 0,342 0,237	0,778 0,296 0,292 0,239 0,336
ure ELISA,	7	0,811	0,286 0,361 0,256 0,213 0,363	0,279 0,359 0,303 0,186 0,389	0,415 0,265 0,228 0,267 0,276
antigen capture	9	0,182	0,102 0,070 0,140 0,136 0,181	0,075 0,099 0,087 0,105	0,096 0,100 0,099 0,133
in antig	S	0,080	0,056 0,057 0,064 0,053 0,058	0,063 0,052 0,055 0,055	0,723 0,061 0,049 0,051 0,054
measured	4	0,059	0,054 0,053 0,044 0,057 0,055	0,050 0,052 0,047 0,050 0,050	0,053 0,064 0,050 0,052
as .ngs	m	0,068	0,073 0,065 0,069 0,075 0,062	0,050 0,063 0,059 0,061	0,061 0,066 0,066 0,060
intigen production as D. H 9 cells readings	7	0,059	0,058 0,064 0,075 0,060 0,066	0,068 0,070 0,060 0,060	0,055 0,056 0,048 0,054 0,069
ntigen D. H 9 (H	0,075	0,087 0,068 0,061 0,064 0,060	0,076 0,068 0,063 0,063	0,071 0,064 0,069 0,061
Results: HIV-l antigen production are o. D. H 9 cells readi	Day post infection	HIV Control 1 HIV Control 2	А 1000 µМ 100 µМ 10 µМ 1 µМ 0,1 µМ	B 1000 µM 100 µM 10 µM 1 µM 0,1 µM	C 1000 µM 100 µM 10 µM 1 µM 0,1 µM

ERSATZBLATT

1		1	1					ŀ					İ					
5	ibitor	12		0,278	0,975	1,031	966'0	0,975	1,050	1,059	1,028	1,002	1,002	1,060	1,001	1,020	1,066	
3	no inhibitor	6		0,412	988'0	0,854	906'0	0,905	0,626	0,738	0,807	0,870	686'0	0,924	ì	0,891	0,984	
10		8		0,369	0,368	0,465	0,366	0,379	0,268	0,308	0,464	0,525	0,584	0,547	0,439	0,367	0,434	
		7		0,175	0,218	0,244	0,380	0,354	0,258	0,308	0,458	0,266	0,397	0,407	0,336	0,354	0,464	-
15	_	9		0,079	0,081	0,108	0,134	980'0	0,084	0,107	0,124	0,115	0,094	0,100	0,127	0,149	0,121	
20	-	ស		0,059	0,059	0,053	0,057	0,065	0,062	0,058	0,059	0,053	0,049	0,056	0,059	0,058	0,050	-
20		4		090'0	090'0	0,044	0,054	0,051	0,052	0,050	0,055	0,043	0,048	0,056	0,061	0,051	0,046	-
25		3		0,064	0,072	0,055	0,051	0,062	0,058	0,064	690'0	0,045	0,042	690'0	0,062	0,068	0,063	
		7		0,032	990'0	0,057	0,055	0,055	0,063	990'0	950'0	0,064	0,063	0,059	0,026	0,061	0,057	
30		7		0,067	890'0	0,064	0,057	9,000	90,0	0,065	990'0	0,058	0,065	0,064	90,0	0,067	090'0	
35		Day post infection	D 1000 µM - not tested	100 дм	10 pM	J pM	0,1 дМ	16 1000 µм	100 µM	10 µM	I µM	0,1 µM	17 1000 µM	100 ым	10 µM	L MM	0,1 µM	

ERSATZBLATT

. . . **. .** .

5

10

1 Patentansprüche

- 1. Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, dadurch gekennzeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise ober annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch ist.
- 2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren organisch-chemische Verbindungen, insbesondere Peptide sind oder peptidähnliche Struktur haben und eine zentrale organisch-chemische Gruppe Maufweisen, an die als Seitenketten organische Reste gebunden sind, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurenderivate, Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind.
- 3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß für die Hemmung von Proteinasen die Hemmverbindungen anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen.
- 4. Mittel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwerspaltbare -NHCO-Bindung (also mit umgekehrter Richtung) besitzen.

*

1 5. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen zentrale organisch-chemische Gruppen besitzen, die zwei identische oder in ihrer Funktion 5 äquivalente organische Substituenten aufweisen, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen oder Fettsäuren bis $C_{1,2}$ so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

10

6. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den Hemmverbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten zwei gleiche 15 oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen so gebunden sind, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

- 7. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den verwendeten Hemmverbindungen ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration besteht, 25 während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, so daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung vorliegt.
- 30
- 8. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder 35 strukturell ähnliche organisch-chemische Reste

- enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrum aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.
- 9. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden 10 Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenzen Ile-Gly-Arg-Asn, Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Gln-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; 15 Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Gln-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste enthalten, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus 20 gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms 25 verhindern können.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

I. CLASSIFICATI N. E. SUD ITOT MA	International Application No PCT/I	EP 90/00219
I. CLASSIFICATI N F SUBJECT MATTER (if several cla	ssification symbols apply, indicate all) *	
According to International Patent Classification (IPC) or to both 6		
Int.Cl. A 61 K 37/64, C 07 K 5/02	, 7/02	
II. FIELDS SEARCHED	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Minimum Docum	nentation Searched 7	And the second s
Classification System	Classification Symbols	
		2.5
Int.Cl. ⁵ A 61 K, C 07 K	•	
	· ·	
Documentation Searched othe to the Extent that such Documer	er than Minimum Documentation ats are included in the Fields Searched •	:
III DOCUMENTS CONCUERTED TO		· · · · · · · · ·
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT®		
The first more all		Relevant to Claim No. 13
The Journal of Biological Che	mistry, volume 263.	1-9
10. 34, 3 December 1988		
(Baltimore, MD, US)	·	i
S. Billich et al.: "Synthetic	peptides	
as substrates and inhibitors	of	
human immune deficiency virus pages 17905-17908	-1 protease"	:
(cited in the application)		
(orced in the application)		
Biochemistry, volume 26, No.18	2 0 0	
1987 (Easton, PA, US)	s, 8 September	1-9
T.L. Blundell et al.: "On the ra	ations?	
design of renin inhibitors: X	-ray studios of	
aspartic proteinases complexed	with	
transition-state analogues".		
pages 5585-5590	••	
V		
,X FEBS Letters, volume 247, No] (Amsterdam,NL)		1-3
I.V. Pechik et al.: "Possible r	cole of some	
groups in the structure and fi	metion of	•
HIV-1 protease as revealed by	molecular	
modeling studies",		
pages 118-122, see page 121, r	ight hand column,	•/•
A" document defining the general state of the art which is not	"T" later document published after the	international filing date
A PARTICULAR TO BUSINESS AND A PARTICULAR TO THE	cited to understand the principle	
E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance	أأد أأديب سياماه مراوا
L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special spaces.	cannot be considered novel or cannot be cannot	unnot be considered to
citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relovance.	the claimed invention
O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	document is combined with one or	most other with the
P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	in the art.	tous to a person skilled
V. CERTIFICATION	"&" document member of the same pate	ent family
eate of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Sea	rch Report
9 May 1990 (09.05.90)	14 June 1990 (14.06.90))
	Signature of Authorized Officer	2.46
European Patent Office		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
PCT/ISA/210 (second sheet) (January 1985)		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 1985)

International Application No. PCT/EP 90/00219

III. DOCUI	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND S	HEET)
Category •	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
	line 27 - page 122, left hand column	
j		
ļ		
ĺ		
1		
1		
Ì		
ļ		
-		
	·	
,		·
		Ì
•	·	
		-
	·	
	·	
	1	
	·	l

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internati nales Aktenzeichen PCT/EP 90/00219

I. KLA	SSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei	mehreren Klassifikasionssymbolog sind alle annual og 16						
Nact	I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolien sind alle anzugeben) 6 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC							
	Int.CI ⁵ A 61 K 37/64, C 07 K 5/02, 7/02							
	II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE							
	Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷							
Klassifik		Klassifikationssymbole						
Int.C	Int.CI. 5 A 61 K, C 07 K							
	Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese							
	unter die recherchierte	n Sachgebiete fallen ⁸						
III. EINS	CHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN9							
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ ,soweit erforderlich	n unter Angeles des melles l'illes Talle 12						
A	The Journal of Biological Ch Nr. 34, 5. Dezember 1988 (Baltimore, MD, US) S. Billich et al.: "Synt as substrates and inhibi- human immune deficiency Seiten 17905-17908	hetic peptides tors of						
	(In der Anmeldung erwähnt)							
	Biochemistry, Band 26, Nr. 1 1987 (Easton, PA, US) T.L. Blundell et al.: "On design of renin inhibitor aspartic proteinases comp transition-state analogue Seiten 5585-5590	n the rational rs: X-ray studies of plexed with						
P,X	FEBS Letters, Band 247, Nr. (Amsterdam, NL) I.V. Pechik et al.: "Pos							
* Besond	dere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen 10:	•/•						
"E" alter tion "L" Ver zwe fent nan and	iniert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist iniert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist ires Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internanalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist öffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch einfelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröftlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem leren besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)	 "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugründellegenden Prinzips oder der ihr zugrundellegenden Theotie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruch- 						
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist								
IV. BESC	HEINIGUNG							
1	m des Abschlusses der internationalen Recherche Mai 1990	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts						
Inter	Pasionala Bashambarbabii da	9 to 06 90						
interi	Europäisches Patentamt	C. D. v. d. VLIET						
<u> </u>		L. J. V. G. VLIEI						

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Januar 1985)

III.EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
	groups in the structure and function of HIV-1 protease as revealed by molecular modeling studies", Seiten 118-122, siehe Seite 121, rechte Spalte, Zeile 27 - Seite 122, linke Spalte, Zeile 7	•
		`.
	·	
·		
		j
	·	

THIS PAGE BLANK (USPTO)